

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 11-344479

(43)Date of publication of application : 14.12.1999

(51)Int.Cl.

G01N 30/14

G01N 30/06

G01N 30/40

(21)Application number : 10-154192

(71)Applicant : JASCO CORP

(22)Date of filing : 03.06.1998

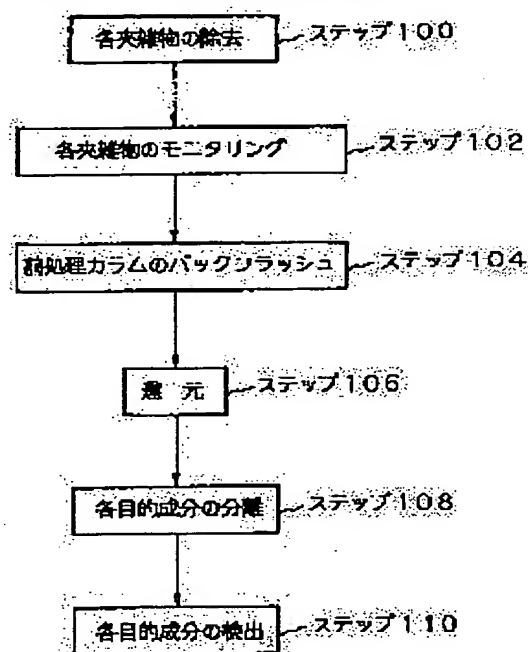
(72)Inventor : KUDO KENICHI
BOUNOSHITA MASAO

(54) METHOD AND APPARATUS FOR SIMULTANEOUSLY MEASURING MULTIPLE COMPONENTS

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a multiple component simultaneous measuring method capable of easily analyzing more trace components at the same time.

SOLUTION: An on-line pretreatment process introducing a soln. to be measured containing objective components into a pretreatment column to remove impurity components eluted more rapidly than objective components (steps 100, 102) and simultaneously eluting respective components developed in the column by a back flash method (step 104), a chemical treatment process for chemically treating the soln. to be measured obtained by the back flash method so as to introduce the same into a chemical treatment column to elute the objective components at the impurity eluting position (step 106), a separation process introducing the soln. to be measured obtained in the process (step 106) into a separation column (step 8), and an objective component detection process (step 110) detecting the objective components separated in the process (step 108), are provided.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平11-344479

(43)公開日 平成11年(1999)12月14日

(51)IntCl.⁶

識別記号

F I

G 0 1 N 30/14

G 0 1 N 30/14

A

30/06

30/06

E

30/40

30/40

審査請求 未請求 請求項の数2 O L (全 12 頁)

(21)出願番号 特願平10-154192

(71)出願人 000232689

日本分光株式会社

東京都八王子市石川町2967番地の5

(22)出願日 平成10年(1998)6月3日

(72)発明者 工藤 憲一

東京都八王子市石川町2967番地の5 日本
分光株式会社内

(72)発明者 坊之下 雅夫

東京都八王子市石川町2967番地の5 日本
分光株式会社内

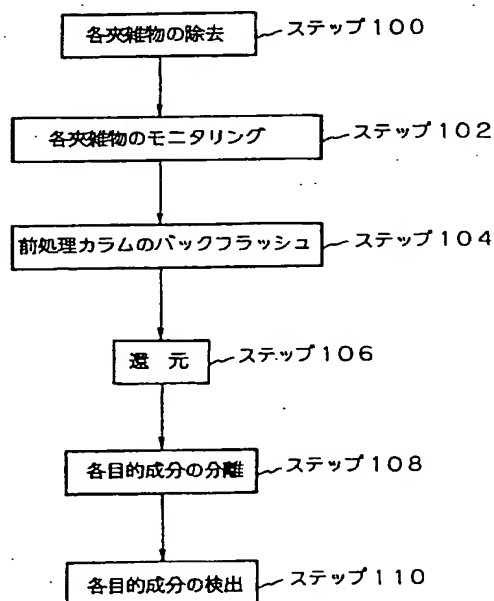
(74)代理人 弁理士 岩橋 祐司

(54)【発明の名称】 多成分同時測定方法及びその装置

(57)【要約】

【課題】 本発明の目的は、より多くの微量成分の同時分析を容易に及び高感度に行うことのできる多成分同時測定方法を提供することにある。

【解決手段】 目的成分を含む被測定液を前処理カラムへ導入して目的成分より早く溶出する夾雑成分を除去したのち（ステップ100、102）、バックフラッシュ法（ステップ104）で該カラム中に展開した各成分を同時に溶出するオンライン前処理工程と、該バックフラッシュ法で得た被測定液を化学処理カラムへ導入して目的成分が該夾雑物の溶出位置に溶出するように化学処理をする化学処理工程（ステップ106）と、該工程（ステップ106）で得た被測定液を分離カラムへ導入して目的成分を分離する分離工程（ステップ108）と、該工程（ステップ108）で分離した目的成分を検出する目的成分検出工程（ステップ110）と、を備えたことを特徴とする多成分同時測定方法。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】 液体クロマトグラフィーを用いて多成分の同時分析が可能な方法であって、

一または二以上の目的成分を含む被測定液を、前処理カラムへ導入して、該目的成分より早く溶出する夾雑物を除去したのち、バックフラッシュ法で該前処理カラム中に展開した各成分を同時に溶出するオンライン前処理工程と、

前記バックフラッシュ法で得た被測定液を化学処理カラムへ導入して、前記目的成分が前記夾雑物の溶出位置に溶出するように化学処理をする化学処理工程と、

前記化学処理工程で得た被測定液を分離カラムへ導入して目的成分を分離する分離工程と、

前記分離工程で分離した目的成分を検出する目的成分検出工程と、

を備えたことを特徴とする多成分同時測定方法。

【請求項 2】 液体クロマトグラフを用いて多成分の同時分析が可能な装置であって、

一または二以上の目的成分を含む被測定液を、前処理カラムへ導入して、目的成分より早く溶出する夾雑物を除去したのち、バックフラッシュ法で該前処理カラム中に展開した各成分を同時に溶出するオンライン前処理手段と、

前記バックフラッシュ法で得た被測定液を化学処理カラムに導入して、前記目的成分が前記夾雑物の溶出位置に溶出するように化学処理をする化学処理手段と、前記化学処理手段で得た被測定液を分離カラムに導入して目的成分を分離する分離手段と、

前記分離手段で分離した目的成分を検出する目的成分検出手段と、

を備えたことを特徴とする多成分同時測定装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、多成分同時測定方法およびその装置、特に液体クロマトグラフィーを用いた測定方法および装置の改良に関するものである。

【0002】

【従来の技術】 たとえば、大気中などの環境に存在するいくつかの多環芳香族炭化水素とそのニトロ誘導体は発癌性、変異病性を有することが明らかにされ、都市や幹線道路周辺で増加傾向を示す肺癌との関連が疑われている。これらの主な発生源の一つとして自動車排気ガス、特にディーゼル機関による影響が考えられている。しかしながら、このような物質は存在量が微量であり検出が困難とされ、特に大気内動態は殆ど明らかにされていないことから、これらの物質の高感度分析法が要望されている。

【0003】 従来のニトロ多環芳香族炭化水素（ニトロアレーン）測定法としては、蛍光をもたないニトロアレーンを還元して強い蛍光をもつアミノ多環芳香族炭化水

素（アミノアレーン）にしたのち、高速液体クロマトグラフィーを用いて蛍光検出する方法が主に行われている。従来のニトロアレーン測定装置としては、図 1

（a）に示すようなものが用いられている（昭和 60 年 4 月発行、自動車研究、第 7 巻第 4 号、ディーゼル排気粒子中のニトロ多環芳香族炭化水素測定法の研究参照）。

【0004】 同図において、ニトロアレーン測定装置は、溶離液貯槽 10 より送液ポンプ 12 が溶離液を送液する。この溶離液中に、試料注入部 14 よりニトロアレーンを含む被測定液を注入したのち、流路切り換えバルブ 8、9 を適宜切り換えて、つぎの 3 流路のいずれかに切り換えて測定をしている。すなわち、同図（b）に示すように、分析をする際は、あらかじめ流路 1 に設定しておき、前記被測定液を第 1 カラム 16 で分離したのち、還元カラム 18 へ導入してアミノアレーンに還元する。

【0005】 つぎに、ニトロアレーンが還元カラム 18 より溶出する少し前に、流路 2 に切り換えて第 2 カラム 20 にアミノアレーンのみを導入して分離する。さらに、流路 3 に切り換えて、けい光光度計（DP）22 により被測定液からの蛍光量を測定している。また、ジニトロアレーンを分析するため、図 2 に示すような装置を用いることもあった（特開平 7 - 2 5 3 4 2 0 号公報参照）。

【0006】 同図において、この装置は、溶離液貯槽 10 より送液ポンプ 12 が溶離液を送液する。この溶離液中に、インジェクタ 14 よりジニトロアレーンを含む被測定液を注入し、Zn、Cd などを充填した触媒型の還元カラム 18 により、ジアミノアレーンに還元する。さらに、分離カラム 20 によりジアミノアレーンを分離する。分離カラム 20 からの溶出液を、送液ポンプ 24 が送出した発光試薬貯槽 26 の発光試薬と混合し、化学発光検出器 28 により、発光試薬混合液からの化学発光量を測定している。

【0007】 ところで、近年、より確かな分析を行うため、多くの成分の同時分析をすることが要望されているおり、前記図 1～2 に示した測定装置では、ニトロピレンのみを又はジニトロピレンのみを分析することはできないものの、多くの成分の同時分析は非常に困難であった。そこで、多くの成分の同時分析を容易に行うため、図 3 に示すような装置を用いることもあった（平成 9 年 1 月 10 日発行、文部省科学研究費補助金研究班、第 2 回公開シンポジウム、未規制大気汚染物質の挙動と毒性－発がん関連物質－公演要旨集、ニトロ多環芳香族炭化水素の定量、金沢大・栗、早川和一著参照）。

【0008】 同図において、この装置では、溶離液貯槽 10a より送液ポンプ 12a が溶離液を送液する。この溶離液中に、インジェクタ 14 よりニトロアレーンを予めアミノアレーンに還元した被測定液を注入し、流路切

3

り換えバルブ 30 を介して分離カラム 20a へ導入してアミノアレーンを分離する。分離カラム 20a からの溶出液を、送液ポンプ 24 が送出した発光試薬貯槽 26 の発光試薬と混合し、化学発光検出器 28 により、発光試薬混合液からの化学発光量を測定している。

【0009】また、この装置では、流路切り換えバルブ 30 を切り換えて、送液ポンプ 12b により送出した溶離液貯槽 10b の溶離液を分離カラム 20b へ導入して多環芳香族炭化水素を分離し、けい光 (FP) 光度計 22 により被測定液からの発光量を測定している。これにより、ニトロアレーンと多環芳香族炭化水素の同時分析が可能となる。

【0010】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、前記図 3 に示すような装置にあっても、前処理などに、より一層の操作容易化が望まれていた。すなわち、ニトロアレーンと多環芳香族炭化水素の同時分析を可能にするという点では優れているものの、測定者は、前処理としてバッチ法でニトロアレーンを還元してアミノアレーンに変換しておく必要があるので、面倒であり時間もかかる。また、このような前処理をしていたのでは、アミノアレーンは非常に酸化しやすく化学的に不安定なことから、高感度分析が非常に困難となり、再現性や精度が低下するという点も問題視されていた。

【0011】また、前記図 3 に示すような装置にあっても、分離能のより一層の改善も望まれていた。すなわち、目的成分に、さらにジニトロピレンなどを含めた場合の適切な技術は未だ確立されておらず、前処理で夾雑物の除去が不十分であったり、何らかの原因によりジニトロピレンなどの他の目的成分に妨害ピークが重なることがあり、より多くの成分の同時分析を高感度に行うことができる技術の開発が強く望まれていた。

【0012】本発明は、前記従来技術の課題に鑑みなされたものであり、その目的は、より多くの微量成分の同時分析を容易に及び高感度に行うことのできる測定方法及びその装置を提供することにある。

【0013】

【課題を解決するための手段】前記目的を達成するために、本発明者らが鋭意検討をした結果、被測定液を前処理カラムに導入して、目的成分より早く溶出する夾雑物を除去したのち、バックフラッシュ法で前処理カラム中に展開した各成分を同時に溶出し、該バックフラッシュ法で得た被測定液を、目的成分が前記夾雑物の溶出位置に溶出するように化学処理をしたのち、分離カラムへ導入することにより、従来極めて困難であったニトロアレーン、ジニトロアレーンおよび多環芳香族炭化水素などの、より多くの成分の同時分析を、容易に及び高感度に行うことができることを見出し、本発明を完成するに至った。

【0014】すなわち、本発明にかかる多成分同時測定

4

方法は、オンライン前処理工程と、化学処理工程と、分離工程と、目的成分検出工程を備えたことを特徴とする。ここで、前記オンライン前処理工程は、一または二以上の目的成分を含む被測定液を、前処理カラムへ導入して、該目的成分より早く溶出する夾雑物を除去したのち、バックフラッシュ法で該前処理カラム中に展開した各成分を同時に溶出する。また、前記化学処理工程は、前記バックフラッシュ法で得た被測定液を化学処理カラムへ導入して、目的成分が前記夾雑物の溶出位置に溶出するように化学処理をする。

10

【0015】前記分離工程は、前記化学処理工程で得た被測定液を分離カラムへ導入して目的成分を分離する。前記目的成分検出工程は、前記分離工程で分離した目的成分を検出する。また、前記目的を達成するために本発明にかかる多成分同時測定装置は、オンライン前処理手段と、化学処理手段と、分離手段と、目的成分検出手段と、を備えたことを特徴とする。

20

【0016】ここで、前記オンライン前処理手段は、一または二以上の目的成分を含む被測定液を、前処理カラムへ導入して、目的成分より早く溶出する夾雑成分を除去したのち、バックフラッシュ法で該前処理カラム中に展開した各成分を同時に溶出する。

【0017】また、前記化学処理手段は、前記バックフラッシュ法で得た被測定液を化学処理カラムに導入して、前記目的成分が前記夾雑物の溶出位置に溶出するように化学処理をする。前記分離手段は、前記化学処理手段で得た被測定液を分離カラムに導入して目的成分を分離する。前記目的成分検出手段は、前記分離手段で分離した目的成分を検出する。

30

【0018】

【発明の実施の形態】以下、図面に基づき本発明の好適な実施形態を説明する。図 4 には本発明の一実施形態にかかる多成分同時測定装置の概略構成が示されており、前記図 1～図 3 と対応する部分には、符号 100 を加えて説明を省略する。なお、本実施形態においては、被測定液に、ニトロアレーン、ジニトロアレーンおよび多環芳香族炭化水素などを含み、これらの微量成分を同時分析する場合を想定している。同図において、本実施形態にかかる多成分同時測定装置は、オンライン前処理手段と、夾雑物検出手段と、化学処理手段と、分離手段と、目的成分検出手段を含む。

40

【0019】前記オンライン前処理手段は、水 (pH 8.0、ジェチルアミン (DEA)) と、メタノールを 50/50 で混合した溶離液 A が貯留された溶離液貯槽 110a と、メタノールよりなる溶離液 B が貯留された溶離液貯槽 110b より、送液ポンプ 112 により溶離液 A、B を順次、デガッサ 130 を介して送出し、この溶離液中に、オートサンブラ 114 より、ニトロアレーン、ジニトロアレーンおよび多環芳香族炭化水素などを

50

含む被測定液が注入する。

【0020】前記被測定液は、スイッチングバルブ132のポートD、Eを介して、NPpak-P(4.6mm i. d. × 10mm l)よりなる前処理カラム134へ導入され、試料中の各成分は、前処理カラム134中の固定相と親和力が弱いものから順に溶出する。

【0021】前記夾雑物検出手段は、紫外吸光光度計(UV)136aとけい光光度計(FP)122aよりなり、紫外吸光光度計(UV)136aは、前処理カラム134より溶出した多環芳香族炭化水素の紫外吸光を測定し、けい光光度計(FP)122aは蛍光量を測定している。

【0022】ここで、目的成分であるニトロアレーンとジニトロアレーンより早く溶出する夾雑物を除去したのち、スイッチングバルブ132を点線で示した状態から実線で示した状態に切り換えて(図5参照)、バックフラッシュをしている。すなわち、スイッチングバルブ132のポートD、E間を切断かつポートA、B間を導通している。すなわち、勾配溶離部である低压グラジェントユニット138と送液ポンプ140を用いて溶離液貯槽110aの溶離液Aを前処理カラム134中に逆方向より流して、カラム134中に展開した各成分を一のバンドに戻したのち、すなわち各成分を同時に溶出している。

【0023】前記化学処理手段は、白金、白金/ロジウム、パラジウム、ロジウムなどの触媒を充填した還元カラム118よりなり、前記バックフラッシュ法で得た被測定液をスイッチング142を介して還元カラム118に導入して、蛍光をもたないニトロ基を還元して強い蛍光をもつアミノ基に変換することにより、アミノアレーンとジアミノアレーンを前記夾雑物である多環芳香族炭化水素の溶出位置に溶出させて、高感度に蛍光検出されるようにしている。

【0024】なお、還元カラム118は、NPpak-R(4.6mm i. d. × 10mm l)よりなり、恒温手段である反応オープン144により100℃に維持されている。また、スイッチングバルブ142を切り換えることにより、還元カラム118をオンラインにするか、またはオフラインにするかを選択することができるようにしている。

【0025】前記分離手段は、逆相系の分離カラム120よりなり、還元カラム118より溶出した被測定液を、スイッチングバルブ142を介して分離カラム120へ導入して、低压グラジェントユニット138により順次溶離液組成を変えていき、アミノアレーン、ジアミノアレーンおよび多環芳香族炭化水素などの性質の異なる成分を一斉に分離する。なお、分離カラム120は、例えばシリカゲルにオクタデシル基(C₁₈)を化学結合した充填剤(ODS)を用いた、NPpak(4.6mm i. d. × 250mm l)よりなり、カラムオープン146により40℃に維持されている。

【0026】前記目的成分検出手段は、紫外吸光光度計(UV)136bとけい光光度計(FP)122bよりなり、紫外吸光光度計(UV)136bは分離カラム120より溶出した成分の紫外吸光を測定し、けい光光度計(FP)122bは溶出成分からの蛍光量を測定している。

【0027】なお、各紫外吸光光度計(UV)136とけい光光度計(FP)122より出力される測定結果には、制御手段であるコンピュータ148により所望のデータ処理が行われ、クロマトグラムを得ている。また、けい光光度計(FP)122より流出する廃液は、廃液槽150に貯溜している。

【0028】本発明の実施形態にかかる測定装置は、概略以上のように構成され、以下に、その作用について図6を参照しつつ説明する。まず、還元カラム118と分離カラム120をコンディショニングしている状態で、オートサンプラ114より被測定液を注入し、前処理カラム134に導入する。

【0029】ここで、前処理カラム134より保持が弱い成分が溶出し(ステップ100)、これを紫外吸光光度計(UV)136aとけい光光度計(FP)122aによりモニタリングしている(ステップ102)。そして、保持が弱い成分、多環芳香族炭化水素の内、分子量の小さい成分などが溶出して、保持が強いニトロアレーン、ジニトロアレーンおよび多環芳香族炭化水素の内、分子量の大きい成分が前処理カラム134に保持されている状態を確認すると、スイッチングバルブ132を切り換えてバックフラッシュをする(ステップ104)。

【0030】すなわち、送液ポンプ140より溶離液Aが前処理カラム134に逆方向より流れ、展開した各成分が一つのバンドに戻ったのち、すなわち各成分を同時に溶出する。前処理カラム134でバックフラッシュした被測定液は、還元カラム118へ導入される。その後、低压グラジェントユニット138とポンプ140により、溶離液A、Bのグラジェント溶出を開始する。

【0031】このように本実施形態においては、バックフラッシュをして、ニトロビレン、ジニトロビレンおよび多環芳香族炭化水素などの各成分を前処理カラムより同時に溶出している。

【0032】還元カラム118は、100℃に維持された状態で、溶離液Aを用いて被測定液中のニトロアレーン、ジニトロアレーンおよび他のニトロ化合物のニトロ基を図7に示すように還元してアミノ基に変換している(ステップ106)。ここで、本実施形態においては、このような還元をするのに、メタノール系の溶離液Aを用いている。また、白金、白金/ロジウムなどの触媒を充填した還元カラム118を用いているので、その劣化を防ぎ、長寿命化が可能となる。

【0033】分離カラム120は、メタノールと塩基性(ジエチルアミン)になっている溶媒を混合した溶離液

をグラジェント溶出することにより、アミノアレーン、ジアミノアレーンおよび多環芳香族炭化水素などの性質の異なる成分を一斉に分離する（ステップ108）。

【0034】溶出成分は、後段の検出手段で検出され（ステップ100）、コンピュータにより定量、定性が行われる。たとえば、逆相系の分離カラム120中で、アミノアレーンは、多環芳香族炭化水素より早く溶出し、ジアミノアレーンはアミノアレーンより早く溶出するので、実試料の溶出位置を、標準試料の溶出位置と比較することにより、置換基数を推定することができる。

【0035】すなわち、被測定液にニトロアレーン、ジニトロアレーン等のニトロ基をもつ化合物が含まれると、還元カラム118で蛍光をもたないニトロ基が還元されて強い蛍光をもつアミノ基に変換されるので、スイッチングバルブ142の切り換えにより、還元カラム118をオフラインにして得られたクロマトグラムと、オンラインにして得られたクロマトグラムを比較して、蛍光検出されていた成分のピークが消滅すればニトロアレーンなどであり、消滅しなければ他の成分であることを確認することができる。

【0036】また、ニトロ基をアミノ基に還元するか否かをスイッチングバルブ142の切り換えのみで、このようなニトロアレーン関連物質か否かを判断するための情報を容易に得ることができるので、未知のニトロアレーン（すべてのニトロ化合物）を容易に発見することができる。このように本実施形態においては、オンライン前処理で、バックフラッシュ法を採用している。

【0037】すなわち、ニトロアレーンなどを分析するのに、バックフラッシュをせず、前処理カラム中に各成分を展開したままの状態還元カラムへ導入したのでは、カラム出口付近のニトロアレーンなどは、分離カラムでもニトロアレーンより遅い夾雑成分より早く溶出して選択的に検出されるものの、カラム入口付近のジニトロアレーンなどは、還元されてもそれより早く分離している夾雑成分を追い越せないことがあり、ジニトロアレーンのピークに、それより早く分離した夾雑成分の妨害ピークが重なることがあり、ジニトロアレーンなどを含めたより多くの成分の選択的測定は非常に困難であった。

【0038】そこで、本実施形態においては、前処理カラムで夾雑成分を除去したのち、バックフラッシュをしてカラム中に展開した各成分を一のバンドに戻したのち、すなわち各成分を同時に前処理カラムより溶出することにより、ニトロアレーン、ジニトロアレーンなどの、より多くの目的成分をより明瞭に分離可能としているのである。

【0039】また、本実施形態においては、送液ポンプ112等により試料を注入して、これを前処理カラム134等へ送り溶出させている。また、バックフラッシュ後に、例えば目的成分がスイッチングバルブ142等を通過して、還元カラム144等または分離カラム146

等に入ったのちに、前処理カラム134等の洗浄およびコンディショニングを行っている。また、送液ポンプ140等により前処理カラム134のバックフラッシュと、その後のグラジェント溶出を行っている。

【0040】このように本実施形態においては、それぞれが前述したような役割をもつ2つの送液ポンプ112、140等を設けることとしたで、グラジェント溶出中に、前処理カラム134等の洗浄およびコンディショニングが可能となり、そのような工夫のないものに比較し、分析時間の短縮化を大幅に図ることができる。

【0041】また、本実施形態においては、還元をするのに、白金、白金/ロジウム、パラジウムおよびロジウムなどの触媒が充填された還元カラムを用いている。すなわち、還元カラムには、亜鉛、カドミウムなどの接触型のものを用いることもあった。しかしながら、このような接触型の還元カラムを用いると、亜鉛、カドミウムなどの金属が還元と同時に溶液中に溶け出すこととなり、還元カラムを劣化させてしまう。これにより再現性が悪くなってしまふ。また検出法への影響、廃液への重金属混入による環境への影響も考えられる。

【0042】また、このような接触型の還元カラムでは、検出に化学発光検出法を、溶離液にアセトニトリルを、それぞれ用いた場合は、還元能が発現されない。また、メタノールを用いた場合は、還元能を有するが、化学発光検出法ではバックグラウンドが上がり感度が不足する。そこで、本発明者らが種々の還元カラムを検討した結果、還元カラムには、白金、白金/ロジウム、パラジウムおよびロジウムなどの触媒を用いたものを用いることが最適であることを確認したのである。

【0043】また、本実施形態においては、還元および分離をするのに、アルカリ性の溶離液を用いている。すなわち、従来の分離法では、pHの低い溶離液を用いることもあった。しかしながら、このようなpHの低い溶離液を用いると、本実施形態のように、より多くの微量成分を扱う場合、特にジアミノピレンのピークが還元カラム、分離カラム内でテーリングしてしまうことがあった。そこで、本発明者らが溶離液のpHを検討した結果、本実施形態のように、ニトロピレン、ジニトロピレンなどの、より多くの成分の同時分析を行う際には、アルカリ性の溶離液が最適であることを確認した。

【0044】この結果、ジアミノアレーンおよびアミノアレーンの蛍光強度が強くなるので、また、ジアミノピレンの還元カラムおよび分離カラムでのテーリングを防ぎ、ピーク形状をよりシャープなものに改善することができるので、このような各成分の選択的測定を、より高感度に行うことができる。

【0045】さらに、本実施形態においては、溶離液AのpHをアルカリ性に調整するのに、水酸化ナトリウム（NaOH）、水酸化カリウム（KOH）などのアルカリでなく、ジエチルアミン（DEA）などのアミン系p

H調整剤を添加しており、アルカリ性の溶離液を用いた場合のカラムの寿命を長くすることができる。

【0046】以上のように本実施形態にかかる測定装置によれば、カラムスイッチング法を用いてスイッチングバルブ132、142を切り換えることにより、オンラインで前処理をすることなく自動に、ニトロアレーン、ジニトロアレーンおよび多環芳香族炭化水素などの、より多くの微量成分の同時分析を、容易に及び高感度に検出することができる。そして、本実施形態において、以上のような分析法を用いたのは、以下のためである。

【0047】すなわち、ニトロアレーンと多環芳香族炭化水素などの同時分析を行うのには、前記図3に示すように、化学発光検出法を用いることが多かった。しかしながら、このような化学発光検出法を用いると、本実施形態において好適な触媒型の還元カラムを用いることが非常に困難である。また、グラジエント溶出法を用いることが非常に困難となり一定組成溶媒による測定が中心となってしまうので、本実施形態のような、性質の異なる、より多くの成分の一斉分離を行う際は、採用するに*

測定条件

カラム : 前処理カラム (4.6mm i. d. × 10mm l)、還元カラム (4.6mm i. d. × 10mm l)、分離カラム ODS (4.6mm i. d. × 250mm l)

溶離液A : 水 (pH 8.0, (ジエチルアミン) DEA) / メタノール (50/50)

溶離液B : メタノール

グラジエント溶出 : 時間 min	A %	B %
0	100	0
5.0	100	0
40.0	0	100
50.0	0	100
50.1	100	0

1 サイクル 60.0 min

流量 : 1.0 ml/min

カラム温度 : 前処理カラム、分離カラム 40℃、還元カラム 100℃

試料注入量 : 10 μl

紫外吸光検出波長 : 254 nm

けい光検出波長 : 時間 (min)	Ex (nm)	Em (nm)	ゲイン
0 min ~	375	460	×100
20 min ~	365	436	×100

【0051】図8より明らかなように、同図Iに示す還元カラム118をオンラインにした場合は、ニトロピレン (NP) に相応するピークを検出することができ、一方、同図Iに示すオフラインにした場合はこのようなピークを検出することができなかった。これにより還元カラム118によるニトロピレン (NP) のアミノピレン (AP) への還元を確認することができた。

【0052】つぎに、前処理カラム134をバックフラッシュするタイミングを検証する目的で、17の多環芳

*至らなかった。また、溶離液の組成や溶離液中の溶存酸素などの影響を受けやすく、満足のゆく再現性を得ることができなかった。また、化学発光量を強くするために反応試薬を混合する必要があるため手間がかかる。さらに、排ガスの測定では、バッチ式で前処理が必要となり面倒であった。

【0048】そこで、本発明者らが種々の分析法を検討した結果、ニトロアレーン、ジニトロアレーンおよび多環芳香族炭化水素などのより多くの成分の同時分析を容易に及び高感度に行うためには、本実施形態にかかる測定方法が最適であることを確認したのである。

【0049】還元カラムの還元性能

つぎに、還元カラム118の還元能を検証する目的で、本実施形態にかかる測定装置を用いて、ディーゼル車の排気ガスより得た粉塵を抽出した実試料、具体的にはジクロロメタンを使用したソックスレー抽出後、ジメチルホルムアミド (DMF) にて転溶したもの、を含む被測定液を、つぎに示す測定条件により測定した。

【0050】

芳香族炭化水素 (PAH) 標準試料、1 : ナフタレン (Naphthalene)、2 : アセナフチレン (Acenaphthylene)、3 : アセナフテン (Acenaphthene)、4 : フルオレン (Fluorene)、5 : フェナントレン (Phenanthrene)、6 : アントラセン (Anthracene)、7 : フルオランテン (Fluoranthene)、8 : ピレン (Pyrene)、9 : ベンズ [a] アントラセン (Benzo[a] Anthracene)、10 : クリセン (Chrysene)、11 : ベンズ [e] ピレン (Benzo[e] pyrene)、12 : ベンズ [b] フルオランテン (Benzo[b]

fluoranthene)、13:ベンズ[k]フルオランテン (Benzo[k]fluoranthene)、14:ベンズ[a]ピレン (Benzo[a]pyrene)、15:ジベンズ[a, h]アントラセン (Dibenzo[a, h]anthracene)、16:ベンゾ[g, h, i]ペリレン (Benzo[g, h, i]perylene)、17:インデノ[1, 2, 3-c, d]ピレン (Indeno[1, 2, 3-c, d]pyrene)を含む被測定液を測定した。

【0053】なお、測定条件は前記同様とし、前処理カラム134から溶出した保持時間の短い多環芳香族炭化水素を紫外吸光度計(UV)136aで検出してクロマトグラムを得た。

【0054】図9(a)に得られたクロマトグラムを示す。前処理カラム134のバックフラッシュのタイミングは、これらの溶出位置より決める。スイッチングバルブ132の切り換えは、溶出位置Aで行った。この場合は、17成分の多環芳香族炭化水素標準試料のうち、2成分、1:ナフタレン(Naphthalene)、2:アセナフチレン(Acenaphthylene)を、紫外吸光度計136a(UV)またはけい光光度計(FP)122aで検出している。

【0055】つぎに、前処理カラム134をバックフラッシュしたのち、還元カラム118、分離カラム120より溶出した被測定液を、紫外吸光度計(UV)136bで検出した。この結果、同図(b)より明らかなように、残りの15成分の多環芳香族炭化水素(PAH)標準試料は、明瞭に分離され、極めて高感度の検出が可能となったことを示している。

【0056】つぎに、ニトロピレン(NP)および1,3-,1-6-,1-8ジニトロピレン(DNP)標準試料を含む被測定液を測定した。なお、測定条件は前記同様とした。この結果、図9(c)に示すように、1,6-,1-8-,1-3ジニトロピレン(DNP)、ニトロピレン(NP)を極めて高感度に検出した。

【0057】つぎに、前記実試料を含む被測定液を測定した。なお、測定条件は前記同様とした。この結果、図10(a)より明らかなように、ニトロピレン(NP)、ジニトロピレン(DNP)および多環芳香族炭化水素を極めて高感度に検出した。

【0058】さらに、他の実試料を測定した結果、同図(b)より明らかなように、ジニトロピレンのピーク付近Bに、同図(c)に示す1,3-,1-6-,1-8ジニトロピレンおよびニトロピレン標準試料に相応しないピークを数種検出した。これらのピークは溶出位置より未知のニトロアレーンと考えられる。したがって、本実施形態にかかる測定装置を用いることにより、未知のニトロアレーン(すべてのニトロ化合物)の発見が可能となったことが示される。さらに、質量分析検出器(MS)を用いることにより、このような未知のニトロ化合物の同定が可能となる。

【0059】ニトロピレンのリニアリティ

図11に、本実施形態にかかる測定装置で得たニトロピレン検量線を示す。同図より明らかなように、検量線は1000pg以下の広い範囲で十分な直線性が得られたことが示される。なお、本発明の測定装置としては、前記実施形態に限られるものでなく、発明の要旨の範囲内で種々の変形が可能である。

【0060】たとえば、図12に示すように、前処理カラム234を、分離カラム220のカラムオープン246内に設けてもよい。なお、前記図4と対応する部分には符号100を加えて示し説明を省略する。この結果、カラムオープン246により前処理カラム234の温度を維持することができるので、前記オンライン前処理を、より良好に行うことができる。

【0061】また、図13に示すように、前処理カラム334で分離した多環芳香族炭化水素をより明瞭に分離するための分離カラム352を、前処理カラム334、分離カラム320とともに、カラムオープン346内に設けてもよい。この結果、多環芳香族炭化水素をより明瞭に分離することができるので、測定を、より高感度に行うことができる。

【0062】また、前記実施形態においては、スイッチングバルブ132、142、232、242、332、342の切り換えを手動的に行う例について説明したが、前記図13に示すように、これらのスイッチングバルブの切り換えを、制御手段であるコンピュータ348により行ってもよい。

【0063】たとえば、コンピュータ348などにより、ニトロアレーン、ジニトロアレーンなどの目的成分より早く溶出する多環芳香族炭化水素をリアルタイムにモニタリングしておいて、目的成分より早く溶出する夾雑成分を検出すると、スイッチングバルブ332の切り換えを自動的にを行い、バックフラッシュを自動的に行うことにより、測定がより容易となる。また、スイッチングバルブ342の切り換えを自動的にを行い、還元カラム344をオンラインにするか、またはオフラインにするかを自動的に行うことにより、このような操作を手動的に行うものに比較し、操作容易化を図ることもできる。

【0064】また、前記各実施形態においては、各種ニトロアレーン分析を行うため、検出手段として紫外吸光度計を用いた例について説明したが、これに限られるものでなく、もう少し広い分析対象を考慮して他の検出手段、例えば可視吸光度計、更には多波長検出器(マルチチャンネル検出器)等を適宜設けてもよい。さらに、前記各実施形態においては、送液ポンプ112等へ流す溶離液を1種、用いた例について説明したが、これに限られるものでなく、複数種、例えば溶出する時と洗浄する時とで、+別々のものを用いてもよい。

【0065】

【発明の効果】以上説明したように、本発明にかかる多成分同時測定方法によれば、被測定液を前処理カラムに

導入して、目的成分より早く溶出する夾雑物を除去したのち、バックフラッシュ法で該前処理カラム中に展開した各成分を同時に溶出し、該バックフラッシュ法で得た被測定液を化学処理カラムに導入して、目的成分が前記夾雑物の溶出位置に溶出するように化学処理をしたのち、分離カラムへ導入することとしたので、従来極めて困難であったニトロアレーン、ジニトロアレーンおよび多環芳香族炭化水素などのより多くの微量成分の同時分析を容易に及び高感度に行うことができる。また、本発明にかかる多成分同時測定装置によれば、被測定液を前

10 処理カラムに導入して、目的成分より早く溶出する夾雑成分を除去したのち、バックフラッシュ法で該前処理カラム中に展開した各成分を同時に溶出するオンライン前処理手段、該バックフラッシュ法で得た被測定液を、化学処理カラムへ導入して、目的成分が夾雑物の溶出位置に溶出するように化学処理をする化学処理手段および該化学処理手段で得た被測定液を分離カラムへ導入して目的成分を分離する分離手段を備えることとしたので、従来極めて困難であったニトロアレーン、ジニトロアレーンおよび他の多環芳香族炭化水素などのより多くの微量

20 成分の同時分析を容易に及び高感度に行うことができる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】、

【図 2】、

【図 3】 従来の測定装置の概略構成の説明図である。

【図 4】 本発明の一実施形態にかかる多成分同時測定装置の概略構成の説明図である。

【図 5】 図 4 に示した装置のカラムスイッチング法の説

明図である。

【図 6】 図 4 に示した装置の操作手順を示すフローチャートである。

【図 7】 図 4 に示した装置で用いた触媒型還元カラムの作用の説明図である。

【図 8】、

【図 9】、

【図 10】 図 4 に示した装置を用いて実際のニトロアレーン、ジニトロアレーンおよび多環芳香族炭化水素などの測定を行った結果を示すクロマトグラムである。

【図 11】 図 4 に示した装置で得たニトロビレン検量線の一例である。

【図 12】、

【図 13】 図 4 に示した装置の変形例である。

【符号の説明】

1 2 2, 2 2 2, 3 2 2 けい光光度計 (目的成分検出手段, 夾雑物検出手段)

1 3 2, 1 4 2, 2 3 2, 2 4 2, 3 3 2, 3 4 2 スイッチングバルブ

1 3 4, 2 3 4, 3 3 4 分離カラム

1 3 6, 2 3 6, 3 3 6 紫外吸収光度計 (目的成分検出手段, 夾雑物検出手段)

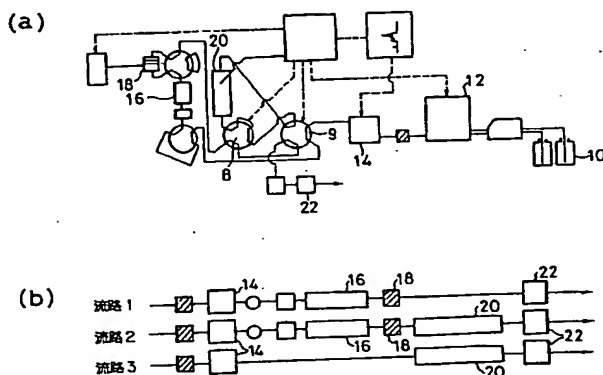
1 3 8, 2 3 8, 3 3 8 低圧グラジェントユニット (勾配溶出部)

1 4 4, 2 4 4, 3 4 4 触媒型還元カラム (化学処理カラム)

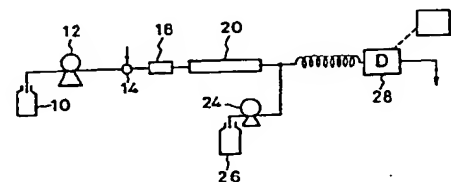
1 4 6, 2 4 6, 3 4 6 分離カラム

1 4 8, 2 4 8, 3 4 8 コンピュータ (制御手段)

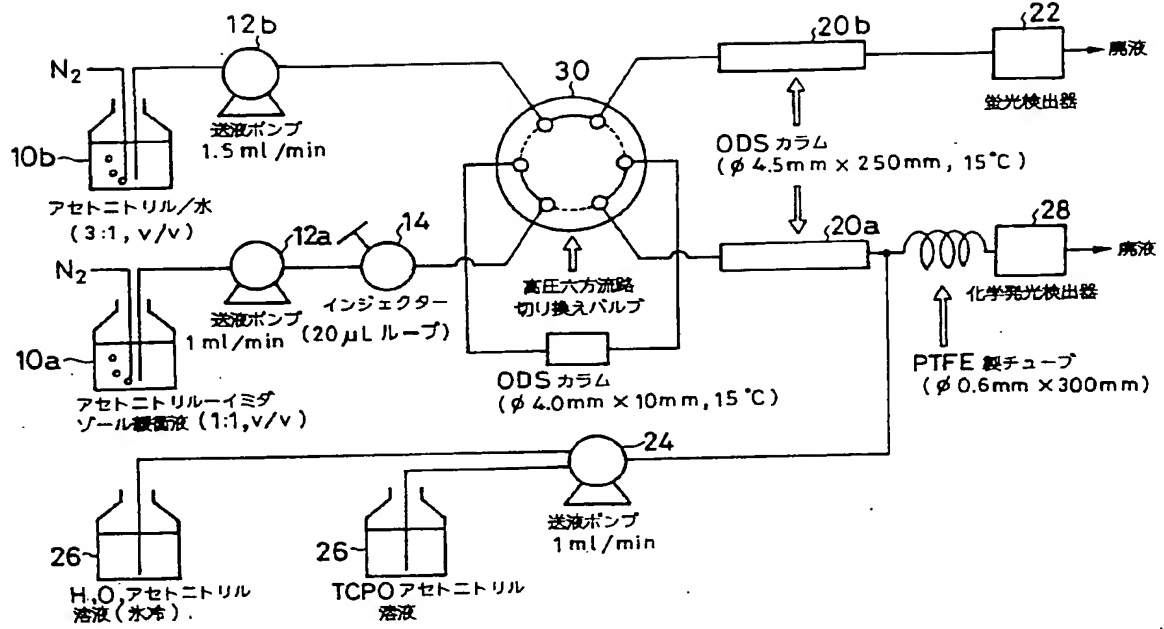
【図 1】



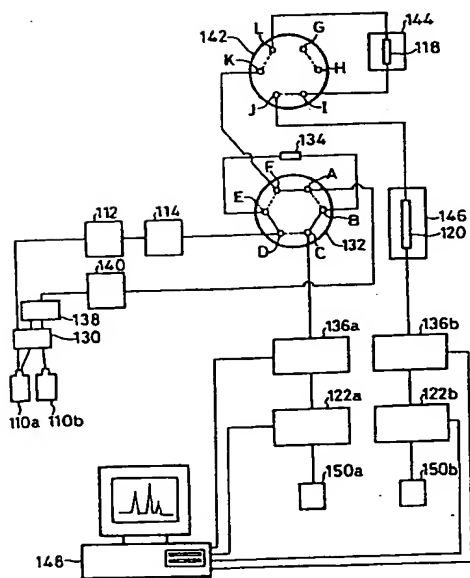
【図 2】



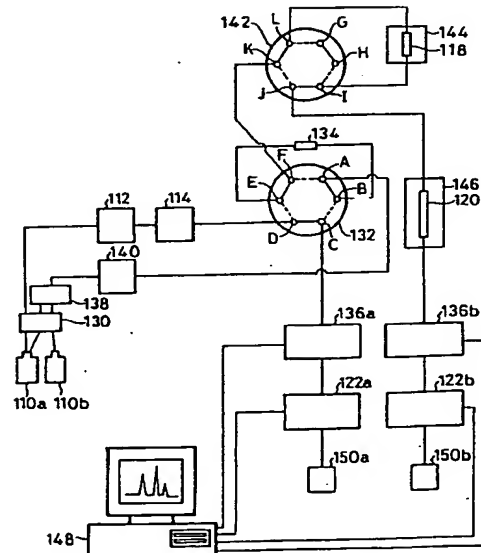
【図 3】



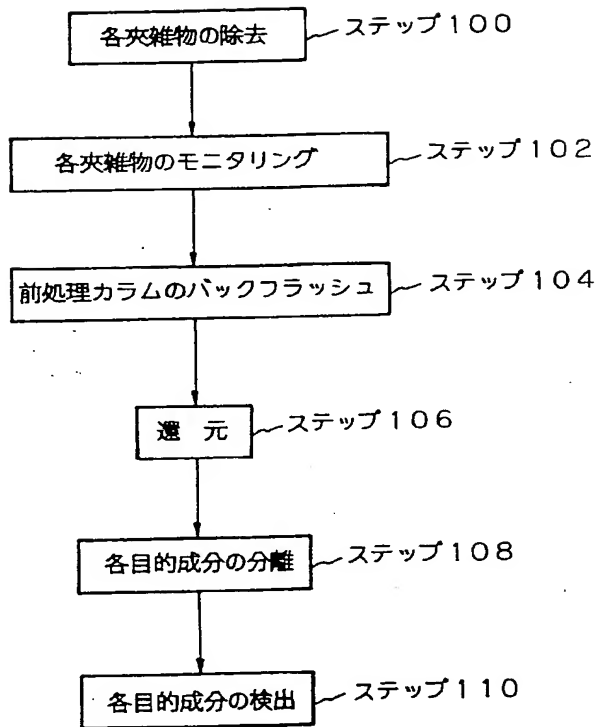
【図 4】



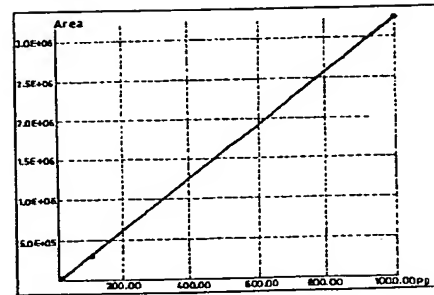
【図 5】



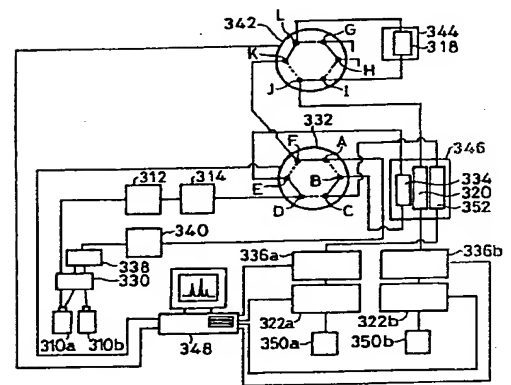
【図6】



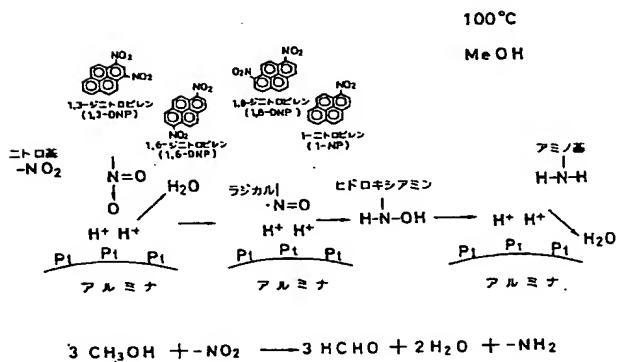
【図11】



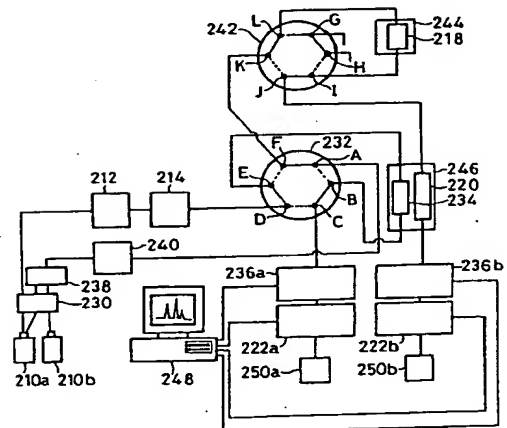
【図13】



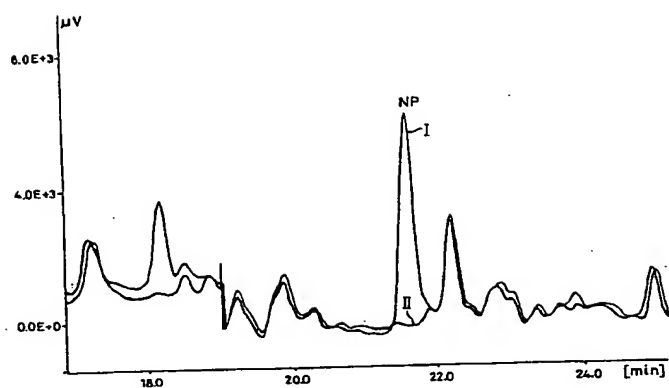
【図7】



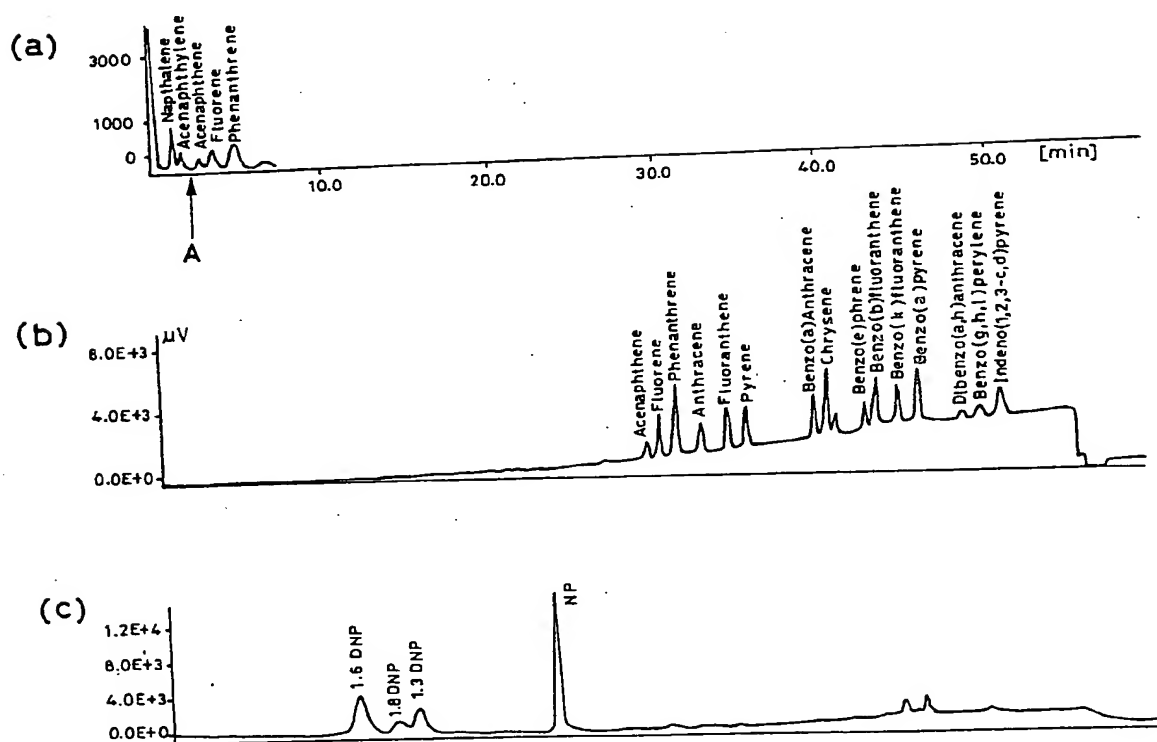
【図12】



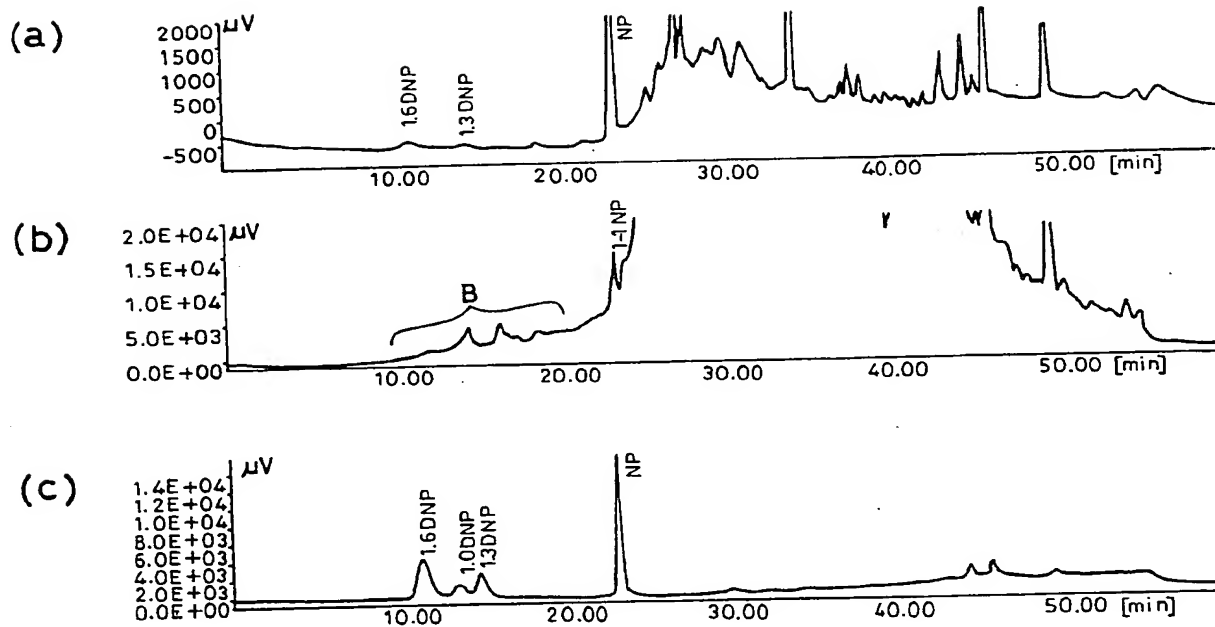
【図 8】



【図 9】



【図10】



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.